大蒜水提取液的體外抑菌實驗研究

In vitro study on the antibacterial activity of garlic water extract

王婉　陳保鋒　宋桂芹　章歡　蔡曉明*

WANG Wan, CHEN Baofeng, SONG Guiqin, ZHANG Huan

（川北醫學院生物學教研室，四川南充　637100）

*通訊作者：15881775691@163.com

[摘要]　目的　探討大蒜水提取液的體外抑菌作用。　方法　以無菌蒸餾水作為溶劑，提取大蒜水溶性抗活性成分，採用平板法，測量水溶性抗活性成分在不同濃度和不同溫度時抑制幾種細菌生長的抑菌圈直徑，分析兩種因素下的抑菌效果。　**結果**　1. 不同濃度的大蒜水提取液抑菌效果不同，濃度越高，抑菌作用越強；2. 6.3%（質量百分比濃度）及以上濃度的大蒜水提取液對金黃色葡萄球菌、大腸桿菌、枯草芽孢桿菌、鏈球菌均有一定的抑制作用，其中對金黃色葡萄球菌的抑制作用最強，對枯草芽孢桿菌抑制作用次之，對大腸桿菌的抑制作用最弱；3. 溫度對大蒜水提取液的抑菌效果有影響，在80℃及以上溫度時，大蒜水提取液只對金黃色葡萄球菌和枯草芽孢桿菌顯示出較強的抑制作用。　**結論**　不同濃度的大蒜水提取液抑菌效果存在差異且有一定的量效關係；大蒜水提取液的抑菌作用從強到弱依次為：金黃色葡萄球菌 > 枯草芽孢桿菌 > 鏈球菌 > 大腸桿菌；溫度對大蒜水提取液的抑菌效果有影響，隨着溫度的升高，大蒜水提取液的抑菌作用逐漸減弱。

[關鍵詞]　大蒜水提取液；抑菌效果；抑菌作用；抑制作用

大蒜（garlic）為百合科蔥屬植物蒜的鱗莖，性溫、味辣，具有抗菌、消炎、祛風、止痢、散癰消毒等功效[1]，經研究發現，大蒜（AlliumSativum L.）對化膿性球菌、葡萄球菌、肺炎雙球菌、綠膿桿菌、大腸桿菌、幽門螺旋桿菌等多種細菌和真菌均有明顯的抑制或殺滅作用[2]，被譽為植物廣譜抗菌素[3]，據報道，大蒜的主要抗菌活性成分是大蒜素，其抗菌原理在於大蒜素分子中的氧原子與細菌生長繁殖所必須的半胱氨酸中的巯基結合，抑制細菌生長繁殖[4]。本實驗以大蒜為原料，研究大蒜水提取液對細的體外抑制作用。

1　材料和方法

1.1　實驗材料

原料：從本地家樂福超市購買的新鮮白皮大蒜

供試菌：金黃色葡萄球菌、大腸桿菌、枯草芽孢桿菌、鏈球菌

1.2　主要儀器設備

高速多功能粉碎XY-500A型（浙江省永康市松青五金廠），生化培養箱SHP-250型（上海精宏實驗設備有限公司），潔淨工作台SW-CJ-2F（蘇州安泰空氣技術有限公司），數顯恆溫水

香港註冊中醫學會版權所有 HKRCMP All Rights Reserved Copyright

浴鍋HH-9（金壇市國旺實驗儀器廠）。

1.3 實驗方法

1.3.1 提取大蒜活性成分

將新鮮大蒜剝皮，挑選一定量無芽無腐爛的大蒜，用蒸餾水洗淨，晾乾後放入冰箱冷凍層。隔夜後取出大蒜，用織搗碎機製成蒜泥，40℃酶解30min後稱取蒜泥10g，加入30ml無菌蒸餾水，充分攪拌，再以4000r/min離心10min，取上清液（淡，聞之有大蒜臭味），質量百分比濃度為25%，然後以無菌蒸餾水稀釋成以下4種濃度：12.5%、6.3%、3.2%、1.6%，分別用棕色磨口瓶盛裝，除菌後4℃避光保存。

1.3.2 製備培養基與細菌接種

將配置好的瓊脂液放入高壓蒸汽滅菌鍋中以15MPa，210℃滅菌60min，在超淨工作台上趁熱將瓊脂液倒入已滅菌乾燥的細菌培養皿，冷卻，製成瓊脂培養基；待一部分瓊脂培養基冷至約50℃，以無菌操作按量加入滅菌脫纖維兔血，製成血瓊脂培養基，冷卻。在冷卻後的無菌瓊脂平板上分別接種上金黃色葡萄球菌、大腸桿菌、枯草芽孢桿菌，在血瓊脂平板上接種鏈球菌，置於37℃培養箱中培養24h。

1.3.3 製備藥敏紙片

用打孔器將吸水性能好且質地均勻的圓形濾紙打成直徑為6mm的小圓紙片，置於乾燥清潔的試管內，放入高壓蒸汽滅菌鍋中200℃滅菌60min，冷卻後一部分浸泡於不同濃度的大蒜水提取液中約30min。

1.3.4 加熱處理

將各種濃度的大蒜水提取液置於數顯恆溫水浴鍋中，在溫度分別為40℃，60℃，80℃，100℃下恆溫水浴30min，冷卻至室溫（約25℃）後，將已滅菌乾燥的濾紙片放入其中浸泡30min。

1.3.5 抑菌效果測試

將每個塗菌培養基等分成4個區域後貼上含有大蒜水提取物的藥敏紙片，做好標記，並設無菌蒸餾水為陰性對照；濾紙片之間距離應基本相等，各紙片中心相距應大於24mm，紙片距平板內緣應大於15mm[5]；平板置於37℃的孵箱中培養24小時後取出，用游標卡尺測量抑菌圈直徑，每種細菌重復3次。

抑菌直徑為每個培養皿上所形成的抑菌圈直徑的平均數，若抑菌圈不規則取最大直徑與最小直徑的平均值，陰性對照應無抑菌圈產生，否則實驗無效。

2 結果

表1 大蒜水提取液（室溫25℃）對各供試菌的抑菌效果

香港註冊中醫學會 版權所有 Copyright HKCMP All Rights Reserved

大蒜水提取液濃度菌	大腸桿菌	枯草芽孢桿菌	金黃色葡萄球菌	鏈球菌
25%	11mm	16mm	17mm	12.5mm
12.5%	9mm	13mm	14mm	10.5mm
6.3%	8mm	11.5mm	12.5mm	8.5mm
3.2%	—	9mm	10.5mm	—
1.6%	—	—	9mm	—
對照	—	—	—	—

注：表中數據爲實際測得的抑菌圈直徑，下同。

從表1可看出：不同濃度的大蒜水提取液抑菌效果不同，濃度越高，抑菌作用越強；25%的大蒜水提取液對各供試菌均有較強的抑制作用，濃度低至1.6%時，大蒜水提取液僅對金黃色葡萄球菌顯示出較弱的抑制作用；大蒜水提取液對供試菌的抑菌作用從強到弱依次為：金黃色葡萄球菌 > 枯草芽孢桿菌 > 鏈球菌 > 大腸桿菌。

表2　大蒜水提取液在不同加熱溫度時對大腸桿菌的抑菌效果

加熱溫度	大蒜水提取液濃度					
	25%	12.5%	6.3%	3.2%	1.6%	對照
40℃	10.5mm	9mm	7.5mm	—	—	—
60℃	8mm	7mm	—	—	—	—
80℃	7mm	6mm	—	—	—	—
100℃	—	—	—	—	—	

從表2可看出：40℃時，各濃度的大蒜水提取液對大腸桿菌的抑制作用與室溫（25℃）比較，無明顯變化；在60℃及以上溫度，大蒜水提取液的抑菌效果減弱，只有12.5%及以上濃度的大蒜水提取液對大腸桿菌顯示出抑制作用；在抑制大腸桿菌的大蒜水提取液有效濃度範圍，隨着溫度的升高，大蒜水提取液的抑菌作用逐漸減弱。100℃時未見抑菌作用。

表3　大蒜水提取液在不同加熱溫度時對金葡球菌的抑菌效果

加熱溫度	大蒜水提取液濃度					
	25%	12.5%	6.3%	3.2%	1.6%	對照
40℃	16.5mm	13mm	12mm	10mm	8.5mm	—
60℃	16mm	12mm	9.5mm	8mm	—	—
80℃	15mm	10mm	—	—	—	—
100℃	12.5mm	—	—	—	—	—

從表3可看出：40℃時，各濃度的大蒜水提取液對金葡球菌的抑制作用與25℃時基本相同；在60℃時，6.3%及以上濃度的大蒜水提取液對金葡球菌顯示出較強的抑制作用，3.2%的大蒜水提取液對金葡球菌抑制作用較弱、溫度在80℃及以上時，大蒜水提取液的抑菌效果明顯減弱。100℃時只有25%的大蒜水提取液對金葡球菌有較強的抑制作用。

表4　大蒜水提取液在不同加熱溫度時對枯草桿菌的抑菌效果

加熱溫度	大蒜水提取液濃度					
	25%	12.5%	6.3%	3.2%	1.6%	對照
40℃	15.5mm	12.5mm	10.5mm	8.5mm	—	—
60℃	14.5mm	11mm	8.5mm	7.5mm	—	—
80℃	12.5mm	9.5mm	—	—	—	—
100℃	10mm	—	—	—	—	—

從表4可看出：40℃度的大蒜水提取液對枯草桿菌的抑制作用與25℃時相比，差異不大；在60℃時，12.5%及以上濃度的大蒜水提取液對枯草桿菌有較強的抑制作用，6.3%及3.2%的大蒜水提取液對枯草桿菌的抑制作用較弱；溫度在80℃及以上時，大蒜水提取液的抑菌效果明顯減弱。100℃時只有25%的大蒜水提取液對枯草桿菌顯示出較強的抑制作用。

表5　大蒜水提取液在不同加熱溫度時對鏈球菌的抑菌效果

加熱溫度	大蒜水提取液濃度					
	25%	12.5%	6.3%	3.2%	1.6%	對照
40℃	12mm	9.5mm	8mm	—	—	—
60℃	9mm	7.5mm	—	—	—	—
80℃	8mm	6.5mm	—	—	—	—
100℃	7.5mm	—	—	—	—	

香港註冊版權所有 All Rights Reserved

從表5可看出：40℃的大蒜水提取液對鏈球菌的抑制作用與25℃時比較，無明顯變化；在60℃及以上溫度，大蒜水提取液的抑菌效果減弱，只有12.5%及以上濃度的大蒜水提取液對鏈球菌顯示出較弱的抑制作用；隨着溫度的升高，大蒜水提取液的抑菌作用逐漸減弱。100℃時只有25%的大蒜水提取液對鏈球菌顯示出抑制作用。

3 結論

3.1 大蒜水提取液對供試菌的抑菌效果表現出較明顯的濃度差異，濃度越高，抑菌作用越強；說明具有一定的量效關係。

3.2 在有效抑菌濃度範圍內，大蒜水提取液的抑菌作用從強到弱依次為：金黃色葡萄球菌 > 枯草芽孢桿菌 > 鏈球菌 > 大腸桿菌。

3.3 溫度對大蒜水提取液的抑菌效果有影響，隨着溫度的升高，抑菌作用逐漸減弱；在80℃及以上溫度，大蒜水提取液對供試菌的抑菌作用明顯減弱，這與時威等研究報道[6]的結果接近。

綜上，大蒜水提取液的抑菌效果在不同濃度與不同溫度時均存在差異。本實驗提示：人們日常利用大蒜可以起到一定的抗菌作用；若要保持大蒜水提取液的抗菌功效，其濃度應達到一定的數值，受熱溫度不宜超過80℃。

參考文獻：

[1] 蔡芸，安毛毛，王睿. 大蒜素抗菌作用的研究進展[J]. 中國藥物應用與監測，2007(5):12-14.

[2] 王寧，史岩眉，朱軍. 大蒜的藥理作用、生物活性和開發利用研究進展[J]. 中國中醫藥信息雜誌，2003,10(10):91-93.

[3] 李岩，呂昌龍，等. 黑大蒜提取物聯合抗生素對金黃色葡萄球菌和大腸埃希菌的體外抗菌作用研究[J]. 微生物學雜誌，2014,34(2):59-62.

[4] 聞平，陳蕾，郭月芳. 大蒜素對白色念珠菌生長的抑制作用[J]. 微生物學雜誌，2007,27(4):104-106.

[5] 劉光明，張俊冬，梁瑞等. 檢測杜仲連翹大蒜和生薑4種藥用植物的抑菌效果[J]. 成都醫學院學報，2011,6(3):241-243.

[6] 時威，張岩，白陽，劉穎. 大蒜素的抑菌作用及其穩定性研究[J]. 食品與發酵科技，2011,47(3):76-78.

（編委：劉碧鳳審校2017.07.05）

大蒜水提取液 濃度	菌	大腸桿菌	枯草芽孢桿菌	金黃色葡萄球菌	鏈球菌
25%		11mm	16mm	17mm	12.5mm
12.5%		9mm	13mm	14mm	10.5mm
6.3%		8mm	11.5mm	12.5mm	8.5mm

香港註冊中醫學會 版權所有 Copyright HKRCMP All Rights Reserved

3.2% － 9mm 10.5mm －

1.6% － － 9mm －

對照 － － － －

注：表中數據為實際測得的抑菌圈直徑，下同。

加熱溫度 大蒜水提取液濃度

25% 12.5% 6.3% 3.2% 1.6% 對照

40℃ 10.5mm 9mm 7.5mm － － －

60℃ 8mm 7mm － － － －

80℃ 7mm 6mm － － － －

100℃ － － － － －

加熱溫度 大蒜水提取液濃度

25% 12.5% 6.3% 3.2% 1.6% 對照

40℃ 16.5mm 13mm 12mm 10mm 8.5mm －

60℃ 16mm 12mm 9.5mm 8mm － －

80℃ 15mm 10mm － － － －

100℃ 12.5mm － － － － －

加熱溫度 大蒜水提取液濃度

25% 12.5% 6.3% 3.2% 1.6% 對照

40℃ 15.5mm 12.5mm 10.5mm 8.5mm － －

60℃ 14.5mm 11mm 8.5mm 7.5mm － －

80℃ 12.5mm 9.5mm － － － －

100℃ 10mm － － － － －

加熱溫度 大蒜水提取液濃度

25% 12.5% 6.3% 3.2% 1.6% 對照

40℃ 12mm 9.5mm 8mm － － －

60℃ 9mm 7.5mm － － － －

80℃ 8mm 6.5mm － － － －

100℃ 7.5mm － － － －

香港註冊中醫學會 版權所有 Copyright HKRCMP All Rights Reserved